



RDH 2350
PATENT

0360
SAH
#3
11-21-02

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application of Hoffman et al.
Serial No. 10/002,864
Filed November 15, 2001
For KARL FISCHER REAGENT

1743
Siestke

December 20, 2001

LETTER TO THE PATENT AND TRADEMARK OFFICE

TO THE ASSISTANT COMMISSIONER FOR PATENTS,

SIR:

- * Enclosed is a certified copy of the German priority document, German Application No. 10056547.6 to be filed in the above-referenced application.
- * Also enclosed is a verified English translation of the application.

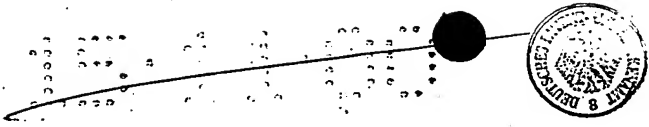
Respectfully submitted,

Christopher M. Goff, Reg. No. 41,785
SENNIGER, POWERS, LEAVITT & ROEDEL
One Metropolitan Square, 16th Floor
St. Louis, Missouri 63102
(314) 231-5400

Express Mail Label No. EL890666295US



A 9161
02100
EDV-L



Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH

15. November 2000
S34835 RI/MK/cp

Zusammenfassung

5

Ein Reagenz zur Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode enthält als Base ein Gemisch aus Imidazol und einem substituierten Imidazol, wobei das Reagenz bevorzugt als Einkomponenten-Reagenz vorliegt.

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH

15. November 2000
S34835 RI/MK/cp

5

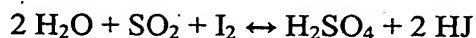
Karl-Fischer-Reagenz

10

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Reagenz zur Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode, seine Verwendung zur Bestimmung des Wassergehaltes nach der Karl-Fischer-Methode sowie ein Einkomponenten-Reagenz.

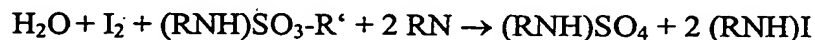
15

Die maßanalytische Bestimmung von Wasser wurde von Karl Fischer entwickelt; sie beruht auf der Oxidation von Schwefeldioxid durch Iod in Gegenwart von Wasser nach der Gleichung



20

Die Karl-Fischer-Titration wird üblicherweise in Gegenwart eines Alkohols als Lösungsmittel und einer Base durchgeführt, wobei man davon ausgeht, daß folgende Reaktion abläuft:



25 wobei RN = Base; R' = Alkyl (ggf. substituiert).

30

Hierbei geht man davon aus, daß im Reagenz aus einem Alkohol und Schwefeldioxid ein Alkylester der schwefligen Säure entsteht. Dieser wird unter Verbrauch stöchiometrischer Mengen von Wasser durch Iod zu dem korrespondierenden Schwefelsäurealkylester oxidiert. In der Praxis werden als Alkoholkomponenten hauptsächlich Methanol und Glykolmonoalkylether verwendet (vgl. E. Scholz

„Karl-Fischer-Titration“, Springer Verlag 1984). Der verwendete Alkohol dient nicht nur als Lösungsmittel, er nimmt auch an der Reaktion teil und beeinflusst deshalb das Titrationsverhalten der damit hergestellten Reagenzien. Der Titrationsendpunkt ist an einem Iod-Überschuß zu erkennen, der visuell, photo-
5 metrisch oder elektrometrisch angezeigt werden kann, wobei eine potentiometrische Endpunktserkennung oder Dead-Stop Indikation zu wesentlich genaueren Ergebnissen führt.

Man unterscheidet vier Grundformen der Karl-Fischer-Titration, nämlich die vo-
10 lumetrische Titration mit einem Einkomponenten-Reagenz, die volumetrische Titration mit einem Zweikomponenten-Reagenz und die coulometrische Titration mit und ohne Diaphragma. Diese vier Varianten erfordern unterschiedliche Reagenzien.

15 Für die Einkomponenten-Titration wird ein Reagenz benötigt, das alle Reaktionspartner des Wassers in einer Lösung hält. Hierzu werden Schwefeldioxid, Iod und die Base in einem Alkohol gelöst. In dieser Lösung reagieren das Schwefeldioxid und der Alkohol schon bei der Zubereitung zu Alkylsulfit. Die Base nimmt das freiwerdende Proton auf. In dem Originalreagenz von Karl Fischer wurde Metha-
20 nol als Alkohol verwendet. Stabilere Reagenzien wurden später mit Methylglykol erhalten. In allen Einkomponenten-Reagenzien fällt der Titer, d.h. die Konzentration des aktiven Iods, mit der Zeit ab. Als Lösungsmittel für die Probe wird im Titriergefäß meist Methanol oder ein Gemisch von Methanol und anderen Lö-
sungsmitteln verwendet.

25

Bei der Zweikomponenten-Titration werden zwei Reagenzien benötigt. Als Tit-
rantkomponente wird eine Lösung von Iod in Methanol verwendet, während als
Solvent eine Lösung von Schwefeldioxid und einer Base in Methanol dient. In
diesem Solvent wird ebenfalls, wie im Einkomponenten-Reagenz, Alkylsulfit ge-
30 bildet. Die Solventkomponente wird im Titriergefäß vorgelegt, mit der Titrant-
komponente wird titriert. Anders als bei der Einkomponenten-Titration findet bei

der Zweikomponenten-Titration ein Titerabfall in der Titrantkomponente nicht statt, solange keine Feuchtigkeit in die Flasche eindringt.

Die Reagenzien für die coulometrische Wasserbestimmung nach Karl Fischer unterscheiden sich in ihren Bestandteilen von den volumetrischen Reagenzien.

- 5 Statt Iod wird ein lösliches Iodid eingesetzt, aus dem während der Titration durch anodische Oxidation Iod erzeugt wird, das analog der oben beschriebenen Reaktionsgleichung reagiert. Die weiteren Bestandteile des Reagenzes sind die gleichen wie in den volumetrischen Reagenzien, d.h. Schwefeldioxid, eine Base und ein Alkohol. Bei der coulometrischen Titration mit Diaphragma sind in einer Zelle mit Diaphragma der Kathoden- und der Anodenraum durch ein Diaphragma ge-
10 trennt. Beide Räume müssen separat mit Reagenz gefüllt werden, wobei für den Kathodenraum üblicherweise ein spezielles Kathodenreagenz eingesetzt wird. Bei der coulometrischen Titration ohne Diaphragma ist eine Trennung von Kathoden- und Anodenraum nicht nötig, da eine spezielle Kathodengeometrie die Bildung
15 von oxidierbaren Substanzen verhindert.

- In einem Karl-Fischer-Reagenz hat die Base die Funktion, die entstehenden Säuren zu neutralisieren und damit einen quantitativen Reaktionsablauf zu fördern. Früher wurde in der Praxis Pyridin als Base verwendet. Auf der Suche nach toxi-
20 kologisch möglichst unbedenklicheren Basen beschreibt EP-B-0 127 740 als weitere geeignete Basen Imidazol, Thiazol, Pyrimidin, Triazin oder deren Substitutionsprodukte. Bei Verwendung von Imidazol in Einkomponenten-Reagenzien wurde jedoch beobachtet, daß sich bei längeren Standzeiten, insbesondere bei höheren Temperaturen wie sie in heißen Ländern auftreten, störende Ausfällungen
25 oder Kristalle bilden, die insbesondere in den Schlauchsystemen von zur Karl-Fischer-Bestimmung verwendeten Apparaturen zu Problemen führen. Um diese Ausfällungen zu verhindern, wird in der *Dissertation* von Silke Grünke, Fachbereich Chemie der Universität Hannover, 1999, Kapitel 7, vorgeschlagen, statt Imidazol ein substituiertes Imidazol wie 2-Methylimidazol in Einkomponenten-
30 Reagenzien zu verwenden. Bei diesem substituierten Imidazol tritt jedoch ein

schneller Titerabfall auf, weshalb derartige Einkomponenten-Reagenzien nicht lagerstabil sind.

5 Deshalb bestand die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe darin, ein verbessertes Karl-Fischer-Reagenz bereitzustellen, das auch als Einkomponenten-Reagenz lagerstabil ist und insbesondere bei höheren Temperaturen nicht zu Ausfällungen neigt. Dabei soll aber die Titerstabilität der bisher verwendeten Reagenzien wenigstens erreicht oder übertroffen werden.

10 Zur Lösung dieser Aufgabe wird vorgeschlagen, daß ein Karl-Fischer-Reagenz als Base ein Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol enthält.

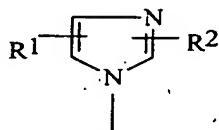
15 Somit betrifft die Erfindung ein Reagenz zur Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode, das dadurch gekennzeichnet ist, daß es als Base ein Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol enthält. Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur quantitativen Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode, das dadurch gekennzeichnet ist, daß das erfindungsgemäße Reagenz verwendet wird. Weiterhin bezieht sich die Erfindung auf die Verwen-

20 dung eines Gemisches aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol in einem Reagenz zur Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode. Außerdem umfaßt die Erfindung ein Einkomponenten-Reagenz für die Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode, enthaltend ein Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol, Schwefeldioxid, Iod und einen

25 wasserfreien Alkohol. Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung sind in der Beschreibung, den Beispielen und den Unteransprüchen definiert.

Erfindungsgemäß enthält das Reagenz ein Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol. Bei dem substituierten Imidazol handelt es sich

vorzugsweise um eine Verbindung der Formel



5

10

15

20

25

30

in der R, R¹ und R² gleich oder verschieden sind und jeweils ein Wasserstoffatom, einen niederen, vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome aufweisenden Alkylrest oder einen Phenylrest bedeuten. Erfindungsgemäß besonders bevorzugt sind substituierte Imidazole mit 1, 2 oder 3 Alkylgruppen mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder mit 1, 2 oder 3 Phenylgruppen oder mit einer Benzogruppe. Beispiele für erfindungsgemäß geeignete Verbindungen sind vor allem 1-Methylimidazol, 1-Ethylimidazol, 1-Propylimidazol, 1-Butylimidazol, 2-Methylimidazol, 2-Ethylimidazol, 2-Propylimidazol, 2-Butylimidazol, 4-Methylimidazol, 4-Butylimidazol; N-Methylimidazol, 1,2-Dimethylimidazol, 1,2,4-Trimethylimidazol, 1-Phenylimidazol, 2-Phenylimidazol und Benzimidazol. Besonders bevorzugt sind 2-Methylimidazol, 2-Ethylimidazol oder ein Gemisch davon, wobei 2-Methylimidazol am meisten bevorzugt ist, da es am wenigsten gesundheitsschädlich ist. Die oben genannten substituierten Imidazole können allein oder im Gemisch von wenigstens zwei oder mehr davon oder im Gemisch mit anderen, für die Karl-Fischer-Titration geeigneten Basen, wie sie aus dem Stand der Technik bekannt sind, wie z.B. Pyridin, Diethanolamin, Dipyridylpropane und/oder Benzoate, vorliegen. Vorzugsweise liegt das molare Verhältnis von Imidazol zu substituiertem Imidazol im Bereich von 0,3 : 2 bis 2 : 0,3, insbesondere von 0,5 : 1,5 bis 1,5 : 0,5, stärker bevorzugt von 1 : 1,3 bis 1,3 : 1.

Neben der Base enthält das Reagenz zusätzlich wenigstens die üblichen Bestandteile eines Karl-Fischer-Reagenzes, insbesondere ein Lösungsmittel, Schwefeldioxid und Iod bzw. Iodid. Die genannten Bestandteile sind in den für Karl-Fischer-Reagenzien üblichen Mengen enthalten.

Als Lösungsmittel für das erfindungsgemäße Reagenz wird zweckmäßigerweise ein wasserfreier Alkohol, vorzugsweise ein Ethylenglykolmonoalkylether mit einer niederen Alkylgruppe, vorzugsweise mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, insbesondere ein Diethylenglykolmonoalkylether mit einer niederen Alkylgruppe, vorzugsweise mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen; ein Propylenglykolmonoalkylether mit einer niederen Alkylgruppe, vorzugsweise mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen; oder ein Gemisch davon verwendet. Besonders geeignete Alkohole sind die obengenannten Ethylenglykolmonoalkylether, insbesondere Diethylenglykolmonoethylether (DEGEE), oder die Propylenglykolmonoalkylether, letztere insbesondere wie sie in der DE-A 197 40 965 definiert sind. Daneben eignen sich als Lösungsmittel auch Methanol, Propanol, 2-Methoxyethanol oder Tetrahydrofurfurylalkohol. Die genannten Alkohole können allein oder im Gemisch mit wenigstens zwei oder mehr davon vorliegen. Am meisten bevorzugt sind die obengenannten Ethylenglykolmonoalkylether, insbesondere die Diethylenglykolmonoalkylether davon, beispielsweise Diethylenglykolmonoethylether. Vorzugsweise wird der Alkohol in einer Menge von 30 bis 80 Gew.-%, vorzugsweise 50 bis 70 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Reagenzgesamtgewicht, verwendet.

Das molare Verhältnis von Base zu Schwefeldioxid in dem Reagenz liegt zweckmäßigerweise im Bereich von 10 : 1 bis 0,3 : 1, vorzugsweise von 2 : 1 bis 0,5 : 1.

Vorzugsweise liegt das erfindungsgemäße Reagenz als Einkomponenten-Reagenz vor, das neben der Base wenigstens Schwefeldioxid, Iod und ein Lösungsmittel, insbesondere einen wasserfreien Alkohol, bevorzugt wie er oben definiert wurde, enthält. Hierbei liegen in dem Einkomponenten-Reagenz übliche Mengen zum Beispiel bei 0,2 bis 3 Mol/l Schwefeldioxid, 0,2 bis 6 Mol/l Base und 0,05 bis 1 Mol/l Iod.

Es besteht aber auch die Möglichkeit, daß das Reagenz als Zweikomponenten-Reagenz vorliegt, wobei sich die Base in der Solventkomponente befindet, oder

daß das Reagenz als Reagenz zur coulometrischen Wasserbestimmung verwendet wird, wobei es Iodid enthält.

Das erfindungsgemäße Reagenz wird vorzugsweise hergestellt durch Lösen der Base, des Schwefeldioxids und Iods in dem Lösungsmittel, ggf. unter Kühlung auf eine Temperatur von 15 bis 50°C, vorzugsweise auf eine Temperatur von 20 bis 40°C. Dabei beträgt die Menge der Base zweckmäßigerweise 0,1 bis 10 Mol, vorzugsweise 0,5 bis 5 Mol, die Menge des Schwefeldioxids 0,1 bis 10 Mol, vorzugsweise 0,5 bis 3 Mol, und die Menge des Iods 0,01 bis 3 Mol, vorzugsweise 0,1 bis 1 Mol, jeweils bezogen auf 1 Liter Lösung. Die Herstellung der Lösung erfolgt in üblicher Weise unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit mit gereinigten Ausgangsmaterialien.

Für die Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode werden die erfindungsgemäßen Reagenzien in üblicher Weise verwendet. In der Titrierzelle wird ein Arbeitsmedium, das gleich dem Lösungsmittel in dem Reagenz sein kann oder verschieden davon sein kann, wie z.B. Methanol oder die Solventkomponente des Zweikomponenten-Reagenzes, vorgelegt. Die Vorlage wird mit dem erfindungsgemäßen Reagenz dann trockentitriert. Dann wird eine Probe, deren Wassergehalt zu bestimmen ist, eingewogen und in üblicher Weise titriert.

Mit Hilfe des erfindungsgemäßen Reagenzes kann der Wassergehalt von Proben wie z.B. festen oder flüssigen Substanzen ermittelt werden, z.B. von Salzen, organischen Lösungsmitteln, Fetten, Ölen, Lebensmitteln und pharmazeutischen Präparaten.

Die erfindungsgemäßen Reagenzien können auch mit herkömmlichen Karl-Fischer-Reagenzien kombiniert werden.

Ein besonders bevorzugtes Reagenz enthält: 1-1,3 Mol/l Imidazol, 0,8-1,3 Mol/l 2-Methylimidazol, 0,3 Mol/l Iodwasserstoffsäure, 1,0-1,3 Mol/l Schwefeldioxid

und 0,08 bis 0,4 Mol/l (je nach Titer des Reagenzes) Iod, das mit Diethylenglykolmonoethylether auf 1 Liter aufgefüllt wird.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung eines Gemisches aus Imidazol und
5 wenigstens einem substituierten Imidazol in einem Reagenz zur Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode. Insbesondere handelt es sich hierbei um ein Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol wie es oben definiert wurde. In einer besonders bevorzugten Ausgestaltung wird hierbei das Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol in einem
10 Einkomponenten-Reagenz verwendet. Daneben betrifft die Erfindung ein Einkomponenten-Reagenz für die Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode, das ein Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol, Schwefeldioxid, Iod und einen wasserfreien Alkohol enthält. Hierbei handelt es sich insbesondere um ein Gemisch aus Imidazol und substituierten Imidazol wie es oben definiert wurde. Bei dem Alkohol handelt es sich vorzugsweise
15 um einen Alkohol wie er oben definiert wurde.

Das erfindungsgemäße Reagenz zeichnet sich durch eine hohe Lagerstabilität aus, besonders auch bei höheren Temperaturen, wie sie beispielsweise in heißen Ländern
20 vorkommen. Die Lagerstabilität wird bewertet anhand des Titers und der Homogenität des Reagenzes. Eine Kristallbildung innerhalb des Reagenzes macht es unbrauchbar, da die Förderschläuche des Titrationsgerätes mit den Kristallen verstopfen. Ein zu starker Titerabfall macht das Reagenz unbrauchbar, da die Titrationsgeschwindigkeit abnimmt und der Reagenzverbrauch zu hoch wird. Ein
25 besonderer Vorteil des erfindungsgemäßen Reagenzes ist, daß keine Kristallbildung innerhalb des Reagenzes erfolgt, der Titer aber trotzdem auch bei längerer Lagerung nur einen geringen Abfall zeigt.

Die folgenden Beispiele, die bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung darstellen, erläutern die Erfindung näher.
30

Beispiele

1. Vergleichsreagenz 1 (mit Imidazol)

	Imidazol	2,0 Mol/l
5	Imidazolhydroiodid	0,3 Mol/l
	Schwefeldioxid	1,0 Mol/l
	Iod	0,4 Mol/l
	Diethylenglykolmonoethylether	800 g

- 10 2. Vergleichsreagenz 2 (mit 2-Methylimidazol)

	2-Methylimidazol	2,0 Mol/l
	2-Methylimidazolhydroiodid	0,3 Mol/l
	Schwefeldioxid	1,0 Mol/l
	Iod	0,4 Mol/l
15	Diethylenglykolmonoethylether	760 g

- 20 3. Vergleichsreagenz 3 (mit Ethylimidazol)

	2-Ethylimidazol	2,0 Mol/l
	2-Ethylimidazolhydroiodid	0,3 Mol/l
	Schwefeldioxid	1,0 Mol/l
	Iod	0,4 Mol/l
	Diethylenglykolmonoethylether	720 g

- 25 4. Erfindungsgemäßes Reagenz 1 (mit Imidazol/2-Methylimidazol)

	Imidazol	1,0 Mol/l
	2-Methylimidazol	1,0 Mol/l
	Imidazolhydroiodid	0,3 Mol/l
	Schwefeldioxid	1,0 Mol/l
	Iod	0,4 Mol/l
30	Diethylenglykolmonoethylether	760 g

- 35 5. Erfindungsgemäßes Reagenz 2 (mit Imidazol/2-Ethylimidazol)

	Imidazol	1,0 Mol/l
	2-Ethylimidazol	1,0 Mol/l
	2-Ethylimidazolhydroiodid	0,3 Mol/l
	Schwefeldioxid	1,0 Mol/l
	Iod	0,4 Mol/l
	Diethylenglykolmonoethylether	780 g

Alle Reagenzien wurden auf ihre Lagerstabilität überprüft. Dabei wurden die Kristallbildung und der Titerabfall zu bestimmten Zeiten bestimmt.

Kristallbildung:

5

50 ml Reagenz wurden mit 0,2 ml Wasser versetzt und bei Raumtemperatur gelagert.

Homogenität	Beispiel 1	Beispiel 2	Beispiel 3	Beispiel 4	Beispiel 5
nach 1 Woche	wenig Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle
nach 3 Wochen	viele Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle
nach 3 Monaten	viele Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle	keine Kristalle

Titerstabilität:

10

Bei der Bestimmung des Titerabfalls, die in üblicher Weise erfolgte, wurde Methanol als Arbeitsmedium verwendet.

Titerabfall	Beispiel 1	Beispiel 2	Beispiel 3	Beispiel 4	Beispiel 5
nach 1 Woche	0,40%	1,97%	0,60%	0,40%	0,38%
nach 4 Wochen	1,09%	2,99%	1,79%	1,55%	1,46%
nach 4 Monaten	6,3%	23,9%	21,3%	9,6%	10,1%

- 15 Das Vergleichsreagenz 1 zeigt eine gute Titerstabilität, bildet aber bei Anwesenheit von Feuchtigkeit sehr schnell Kristalle. Nach der Kristallbildung kann es nicht mehr verwendet werden.

- 20 Die Vergleichsreagenzien 2 und 3 bilden keine Kristalle bei Anwesenheit von Feuchtigkeit, zeigen aber einen sehr hohen Titerabfall von über 20% des Originaltiters nach 4 Monaten. Nach diesem Zeitpunkt können sie nicht mehr verwendet werden.

Dagegen zeigen die erfindungsgemäßen Reagenzien 1 und 2 keine Kristallbildung und zusätzlich eine gute Titerstabilität.

- 5 Die Beispiele zeigen, daß die erfindungsgemäßen Reagenzien mit einem Gemisch von Imidazol und einem substituierten Imidazol als Base die beste Lagerstabilität aufweisen.

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH

15. November 2000
S34835 RI/MK/cp**Patentansprüche**

5

1. Reagenz zur Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode, dadurch gekennzeichnet, daß es als Base ein Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol enthält.

10

2. Reagenz nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das substituierte Imidazol 1, 2 oder 3 Alkylgruppen mit 1 bis 4 C-Atomen oder 1, 2 oder 3 Phenylgruppen oder eine Benzogruppe aufweist.

15

3. Reagenz nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem substituierten Imidazol um 2-Methylimidazol oder 2-Ethylimidazol handelt.

20

4. Reagenz nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das molare Verhältnis von Imidazol zu substituiertem Imidazol im Bereich von 0,3 : 2 bis 2 : 0,3 liegt.

25

5. Reagenz nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es als Einkomponenten-Reagenz vorliegt und neben der Base wenigstens Schwefeldioxid, Iod und einen wasserfreien Alkohol enthält.
6. Reagenz nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es als Lösungsmittel wenigstens einen wasserfreien Alkohol ausgewählt aus einem Ethylenglykolmonoalkylether mit einer Alkylgruppe mit

- 1 bis 5 C-Atomen, einem Propylenglykolmonoalkylether mit einer Alkylgruppe mit 1 bis 5 C-Atomen und einem Gemisch davon enthält.
7. Verfahren zur quantitativen Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode, dadurch gekennzeichnet, daß ein Reagenz gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche verwendet wird.
8. Verwendung eines Gemisches aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol wie in einem der Ansprüche 1 bis 4 definiert, als Base in einem Reagenz zur Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode.
9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol in einem Einkomponenten-Reagenz verwendet wird.
10. Einkomponenten-Reagenz für die Wasserbestimmung nach der Karl-Fischer-Methode, enthaltend als Base wenigstens ein Gemisch aus Imidazol und wenigstens einem substituierten Imidazol wie in einem der Ansprüche 1 bis 4 definiert, Schwefeldioxid, Iod und einen wasserfreien Alkohol.



BARDEHLE
PAGENBERG
DOST
ALTENBURG
GEISSLER
ISENBRUCK



Translator's Certificate

I, Dr. Mathias Ricker, am familiar with both the English and German languages and have translated the German patent application no. 10056547.6 to English and verify that it is a true and accurate translation.

Munich, November 15, 2001

Dr. Mathias Ricker, Patentanwalt



10056547.6
Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH

March 15, 2001
S34835 RI/Sta/cp

Karl Fischer Reagent

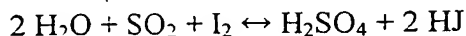
5

The present invention relates to a reagent for the determination of water according to the method of Karl Fischer, its use for the determination of the water content according to the method of Karl Fischer, as well as a one component reagent.

10

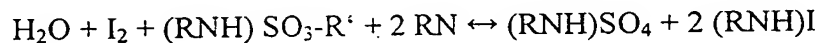
Volumetric analysis of water was developed by Karl Fischer; it is based on the oxidation of sulfur dioxide by iodine in the presence of water according to the following equation

15



Usually, the Karl Fischer titration is performed in the presence of an alcohol as solvent and a base, with the following reaction presumed to occur:

20



with RN = base; R' = alkyl (optionally substituted).

It is assumed that within the reagent an alkyl ester of sulfuric acid is formed from alcohol and sulfur dioxide. The latter is oxidized under consumption of stoichiometric amounts of water by iodine to the corresponding sulfuric acid alkyl ester. In practice, as alcohol components mainly methanol and glycol monoalkyl ether are used (compare *E. Scholz "Karl Fischer-Titration". Springer Verlag 1984*).

The alcohol used does not only serve as a solvent but also participates in the reac-

30

tion and hence influences the titration behavior of the reagents produced there-
with. The end point of the titration can be recognized by an excess of iodine,
which may be indicated visually, photometrically or electro-magnetically, by a
potentiometric recognition of the end point or by a dead-stop indication leading to
5 substantially more thorough results.

There are four different basic forms of the titration according to Karl Fischer,
namely the volumetric titration using a one component reagent, volumetric titra-
tion with a two component reagent and colometric titration with and without dia-
10 phragm. These four variants require different reagents.

For the one component titration a reagent is necessary which keeps all reaction
partners of water in one solution. For the latter purpose, sulfur dioxide, iodine and
the base are dissolved in an alcohol. In this solution, sulfur dioxide and alcohol
15 already react after being put together to alkyl sulfite. The base accepts the released
proton. In the original reagent made by Karl Fischer, methanol was used as alco-
hol component. Later on, more stable reagents were yielded by using methyl gly-
col. In all one component reagents the titrimetric substance, *i.e.*, the concentration
of active iodine, decreases with time. As solvent for the sample in the titration
20 beaker most of the times methanol or a mixture of methanol and other solvents is
used.

For the two component titration, two reagents are necessary. As titration compo-
nent, a solution of iodine in methanol is used, whereas a solution of sulfur dioxide
25 and a base in methanol serves as solvent. In the latter solvent also a one compo-
nent reagent, alkyl sulfite, is formed. The solvent component is placed in the titra-
tion beaker and subsequently titration is performed using the titration component.
In contrast to the one component titration, in two component titration a decrease
of the normality of the titration component does not occur, as long as no humidity
30 penetrates into the flask.

The reagents used for the colometric determination of water according to Karl Fischer are different concerning their constituents from the volumetric reagents. Instead of iodine, soluble iodide is used, from which during titration iodine is formed by anodic oxidation, which reacts in analogy to the above-described reaction scheme. The further constituents of the reagents are the same as in the volumetric reagents, *i.e.*, sulfur dioxide, a base and an alcohol. In case of the colometric titration with diaphragm, the cathode and anode space are separated by means of a diaphragm in the cell. Both spaces have to be filled up with reagent separately, with the cathode space usually being provided with a special cathode reagent. In case of colometric titration without diaphragm, a separation of cathode and anode space is not necessary because the particular geometry of the cathode avoids the formation of substances that might be oxidized.

In a reagent according to Karl Fischer a base serves the function to neutralize the acid which is produced, thereby facilitating a quantitative reaction. In former times, pyridine was used as a base in practice. Looking for toxicologically acceptable, non-harmful bases, EP-B-0 127 740 describes as further suitable bases imidazole, thiazole, pyrimidine, triazine or substitution products thereof. If imidazole was used in one component reagents, however, it was observed that upon longer storage times, especially at higher temperatures as occurring in hot countries, undesirable precipitations or crystals were formed, which led to problems in the flexible tube systems of the apparatus used for Karl Fischer determinations. In order to prevent these precipitations, the Ph.D. thesis of Silke Grünke, Chemistry Department of the University of Hannover, 1999, Chapter 7, proposes to use a substituted imidazole, such as 2-methylimidazole in one component reagents instead of imidazole. However, when using this substituted imidazole, a rapid decay of normality is observed, leading to the situation that such one component reagents are not stable upon storage.

Consequently, the problem underlying the present invention was to provide an improved Karl Fischer reagent which is stable upon storage as a one component

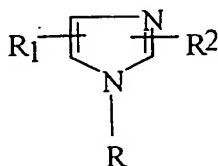
reagent and which especially at high temperatures does not tend to precipitate. At the same time, the titrimetric stability of the reagents used so far shall at least be reached or even be improved.

- 5 As a solution to this problem it is proposed that a Karl Fischer reagent contains as base a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole.

Therefore, the present invention relates to a reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method which is characterized by the fact that it
10 contains as base a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole. Further, the invention relates to a method for the quantitative determination of water according to the Karl Fischer method which is characterized by the fact that the reagent according to the invention is used. Furthermore, the invention relates to the use of a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole in a
15 reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method. Also, the invention comprises a one component reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method, containing a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole, sulfur dioxide, iodine and a water-free alcohol. Preferred embodiments of the invention are defined in the description, the exam-
20 ples and the subclaims.

The reagent according to the invention contains a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole. Preferably, the substituted imidazole is a compound having the following formula

25



- 30 where R, R¹ and R² are identical or different from each other and mean in particular a hydrogen atom, a lower alkyl residue which preferably contains 1 to 4 carbon

atoms, or a phenyl residue. In the present invention, substituted imidazoles containing 1, 2 or 3 alkyl residues containing 1-4 carbon atoms or containing 1, 2 or 3 phenyl residues or a benzo group, are preferred. Examples for compounds which are suitable for use in the present invention are mainly 1-methylimidazole, 1-ethylimidazole, 1-propylimidazole, 1-butylimidazole, 2-methylimidazole, 2-ethylimidazole, 2-propylimidazole, 2-butylimidazole, 4-methylimidazole, 4-butylimidazole, N-methylimidazole, 1,2-dimethylimidazole, 1,2,4-trimethylimidazole, 1-phenylimidazole, 2-phenylimidazole and benzimidazole. Particularly preferred are 2-methylimidazole, 2-ethylimidazole, or a mixture thereof, with 2-methylimidazole being most preferred because it is the least harmful to the health. The substituted imidazoles mentioned above may be present as single component or in a mixture of at least two or more thereof or in a mixture with other bases which are suitable for Karl Fischer titration and which are known from the prior art, as for example pyridine, diethanol amine, dipyridyl propane and/or benzoate. Preferably, the molar ration of imidazole to substituted imidazole is in the range of 0.3 : 2 to 2 : 0.3, especially from 0.5 : 1.5 to 1.5 : 0.5, more preferred is from 1 : 1.3 to 1.3 : 1.

Besides the base, the reagent in addition contains at least the usual constituents of a Karl Fischer reagent, in particular a solvent, sulfur dioxide and iodine or, respectively, iodide. The mentioned constituents are all contained in an amount that is usual for Karl Fischer reagents.

As a solvent for the reagent according to the invention, it is useful to employ a water-free alcohol, preferably an ethyl glycol monoalkylether with a lower alkyl group, preferably containing 1 to 5 carbon atoms, especially a diethylene glycol monoalkylether with a lower alkyl group, preferably with 1 to 5 carbon atoms; a propyl glycol monoalkylether with a lower alkyl residue, preferably with 1 to 5 carbon atoms; or a mixture thereof. Alcohols particularly useful are the above mentioned ethylene glycol monoalkylethers, especially diethylene glycol monethylether (DEGEE), or the propylene glycol monoalkylethers, the latter especially as

defined in DE-A 197 40 965. In addition, as solvents also methanol, propanol, 2-methoxyethanol or tetrahydrofurfuryl alcohol are useful. The mentioned alcohols may be present as single constituent or in a mixture of at least two or more thereof. Most preferred are the above-mentioned ethylene glycol monoalkylethers, especially the diethylene glycol monoalkylethers thereof, as for example, diethylene glycol monoethylether. Preferably, alcohol is used in an amount of 30 to 80 weight-%, preferably 50 to 70 weight-%, in relation to the entire weight of the reagent.

- 10 The molar ratio of base to sulfur dioxide in the reagent in a useful embodiment lies in the range of 10 : 1 to 0.3 : 1, preferably from 2 : 1 to 0.5 : 1.

Preferably, the reagent according to the invention is present as a one component reagent, which contains beside the base at least sulfur dioxide, iodine, and a solvent, in particular a water-free alcohol, preferably as defined hereinabove. The amounts used are those usual for a single component reagent, for example from 0.2 to 3 mole/l sulfur dioxide, 0.2 to 6 mole/l base and 0.05 to 1 mole/l iodine.

However, there is also the possibility that the reagent is present in the form of a two component reagent, with the base being present in the solvent component, or that the reagent is used as a reagent for the colometric determination of water and contains iodide.

The reagent according to the invention is preferably manufactured by dissolving the base, the sulfur dioxide and the iodine in the solvent, optionally under cooling to a temperature of 15 to 50°C, preferably to a temperature of 20 to 40°C. The amount of base used usefully ranges from 0.1 to 10 moles, preferably from 0.5 to 5 moles, the amount of sulfur dioxide from 0.1 to 10 moles, preferably 0.5 to 3 moles and the amount of iodine used from 0.01 to 3 moles, preferably from 0.1 to 1 mole, all values being related to 1 litre of solution. The manufacture of the solu-

tion is performed in a usual manner under the exclusion of air humidity using purified starting materials.

For the water determination according to the Karl Fischer method the reagents
5 according to the invention are employed in a usual manner. In the titration cell, a working medium which may be equal to the solvent or reagent or be different thereof, as for example methanol or the solvent component of the two component reagents, is placed. Subsequently, the prepared solution is titrated with the reagent according to the invention as a standard. Then, a sample the water content of
10 which has to be determined is weighed and titrated in a usual manner.

Using the reagent according to the invention, the water content of samples as, for example, solid or liquid substances may be determined, as, for example, of salts, organic solvents, fats, oils, nutrients and pharmaceutical preparations.

15

The reagents according to the invention may also be combined with conventional Karl Fischer reagents.

A particularly preferred reagent contains: 1-1.3 mole/l imidazole, 0.8-1.3 mole/l
20 2-methylimidazole, 0.3 mole/l hydroiodic acid, 1.0-1.3 mole/l sulfur dioxide and 0.08 to 0.4 mole/l (depending on the normality of the reagent) iodine, which is filled up with diethylene glycol monoethylether to 1 litre.

The invention also relates to the use of a mixture of imidazole and at least one
25 substituted imidazole contained in a reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method. In particular, this is a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole as defined hereinabove. In a particularly preferred embodiment, a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole is used in a one component reagent. Additionally, the invention relates to a
30 one component reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method containing a mixture of imidazole and at least one substituted

imidazole, sulfur dioxide, iodine and a water-free alcohol. In particular, the latter is a mixture of imidazole and substituted imidazole as defined hereinabove. The alcohol preferably is an alcohol as defined hereinabove.

5 The reagent according to the invention is characterized by a high storage stability, especially also at higher temperature, which, for example, occurs in hot countries. The storage stability is evaluated with respect to the normality and the homogeneity of the reagent. Crystal formation within the reagent makes the latter useless because the flexible tubes of the titration apparatus will clog if crystals are present. A strong decrease in normality makes the reagent useless because the velocity of titration decreases and the amount of reagent used becomes too high. A particular advantage of the reagent according to the invention is the fact that no crystal formation happens within the reagent, whereas the normality merely shows a low decrease, also upon longer storage periods.

15

The following examples which embody preferred embodiments of the invention explain the invention in more detail.

Examples

20

1. Comparative reagent 1 (containing imidazole)

	Imidazole	2.0 mole/l
	Imidazole hydroiodide	0.3 mole/l
	Sulfur dioxide	1.0 mole/l
25	Iodine	0.4 mole/l
	Diethylene glycol monoethylether	800 g

2. Comparative reagent 2 (containing 2-methylimidazole)

30

	2-methylimidazole	2.0 mole/l
	2-methylimidazole hydroiodide	0.3 mole/l
	Sulfur dioxide	1.0 mole/l
	Iodine	0.4 mole/l
35	Diethylene glycol monoethylether	760 g

3. Comparative reagent 3 (containing ethylimidazole)

	2-ethylimidazole	2.0 mole/l
5	2-methylimidazole hydroiodide	0.3 mole/l
	Sulfur dioxide	1.0 mole/l
	Iodine	0.4 mole/l
	Diethylene glycol monoethylether	720 g

10

4. Reagent 1 according to the invention (containing imidazole/2-methylimidazole)

	Imidazole	1.0 mole/l
15	2-methylimidazole	1.0 mole/l
	Imidazole hydroiodide	0.3 mole/l
	Sulfur dioxide	1.0 mole/l
	Iodine	0.4 mole/l
	Diethylene glycol monoethylether	760 g

20

5. Reagent 2 according to the invention (containing imidazole/2-ethylimidazole)

	Imidazole	1.0 mole/l
25	2-ethylimidazole	1.0 mole/l
	2-ethylimidazole hydroiodide	0.3 mole/l
	Sulfur dioxide	1.0 mole/l
	Iodine	0.4 mole/l
	Diethylene glycol monoethylether	780 g

30

All reagents were checked for their storage stability. Both, crystal formation and decrease in normality were determined at certain points of time.

35 **Crystal formation:**

50 ml of the reagent were mixed with 0.2 ml of water and stored at room temperature.

40

Homogeneity	Example 1	Example 2	Example 3	Example 4	Example 5
After 1 week	Low amount of crystals	No crystals	No crystals	No crystals	No crystals
After 3 weeks	Many crystals	No crystals	No crystals	No crystals	No crystals
After 3 months	Many crystals	No crystals	No crystals	No crystals	No crystals

Stability of the titration compound:

- 5 Determining the decrease of normality of the titration compound, which was performed in the usual manner, methanol was used as working medium.

Decrease in normality	Example 1	Example 2	Example 3	Example 4	Example 5
After 1 week	0,40%	1,97%	0,60%	0,40%	0,38%
After 4 weeks	1,09%	2,99%	1,79%	1,55%	1,46%
After 4 months	6,3%	23,9%	21,3%	9,6%	10,1%

- 10 Comparative reagent 1 shows a very good stability of the titrimetric compound, however, in the presence of humidity it forms crystals quite rapidly. After formation of crystals it cannot be used anymore.

- 15 Comparative reagents 2 and 3 do not form any crystals in the presence of humidity, however, they show a high decrease in normality of more than 20% of the original normality after four months. After this time, they cannot be used anymore.

- 20 In contrast to the latter, the reagents according to the invention 1 and 2 do not show any crystal formation and, in addition, a good stability of normality.

The examples show that the reagents according to the invention show optimum storage stability if they are used as a mixture containing imidazole and a substituted imidazole as base.

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH

March 15, 2001
S34835 RI/Sta/cp

5

Claims

1. Reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method, characterized in that it contains as base a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole.
- 10 2. Reagent according to claim 1, characterized in that the substituted imidazole contains 1, 2 or 3 alkyl residues with 1-4 C-atoms or 1, 2 or 3 phenyl residues or a benzo group.
- 15 3. Reagent according to claim 1 or 2, characterized in that the substituted imidazole is 2-methylimidazole or 2-ethylimidazole.
4. Reagent according to one of claims 1 to 3, characterized in that the molar ratio of imidazole to substituted imidazole lies in the range of 0.3 : 2 to 2 : 0.3.
- 20 5. Reagent according to one of the preceding claims, characterized in that it is present as one component reagent and beside the base contains at least sulfur dioxide, iodine and a water-free alcohol.
- 25 6. Reagent according to one of the preceding claims, characterized in that it contains as a solvent at least one water-free alcohol selected from an ethyl glycol monoalkylether containing an alkyl residue with 1-5 C-atoms, a propylene glycol monoalkylether containing an alkyl group with 1 to 5 C-atoms and a mixture thereof.

30

7. Method for the quantitative determination of water according to the Karl Fischer method, characterized in that a reagent according to one of the preceding claims is used.
- 5 8. Use of a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole as defined in one of claims 1 to 4 as base in a reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method.
9. Use according to claim 8, characterized in that the mixture of imidazole and at
10 least one substituted imidazole is used in a one component reagent.
10. One component reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method, containing as a base at least a mixture of imidazole and at least one substituted imidazole as defined in one of claims 1 to 4, sulfur dioxide, iodine and a water-free alcohol.
15

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH

March 15, 2001
S34835 RI/Sta/cp

5

Abstract

A reagent for the determination of water according to the Karl Fischer method contains as a base a mixture of imidazole and a substituted imidazole, with the reagent being preferably present as a one component reagent.

10